

20000937

INSTITUT D'ELEVAGE et de MEDECINE VETERINAIRE
des PAYS TROPICAUX

Laboratoire national de l'Elevage et de
Recherches vétérinaires de Dakar-Hann

COMPTE-RENDU

d'un stage effectué au Laboratoire de Pathologie aviaire du
Centre National de Recherches Zootechniques de Jouy-en-Josas
(Seine & Oise), du 1^{er} octobre au 30 novembre 1964.

(Méthodes générales et techniques de recherches concernant la
biologie, la systématique et la thérapeutique des coccidioses)

par G. VASSILIADES.

Au cours d'un stage d'une durée de deux mois, effectué au Laboratoire de Pathologie aviaire du C.N.R.Z., à Jouy-en-Josas, un certain nombre de problèmes techniques et théoriques concernant la biologie, la systématique, la thérapeutique et la prophylaxie des coccidioses ont été abordés.

Des enquêtes récentes ayant démontré l'importance de la coccidiose des ruminants au Sénégal, l'étude de cette parasitose a été inscrite dans le programme de recherches du Laboratoire national de recherches vétérinaires de Dakar.

Pour aborder et entreprendre efficacement les travaux concernant l'étude au laboratoire et sur le terrain de cette protozoose au Sénégal, il a paru intéressant de se familiariser avec les techniques générales et récentes utilisées dans un laboratoire spécialisé.

Dans le présent rapport, les notes sont groupées en un certain nombre de chapitres représentant chacun un aspect de la recherche en matière de coccidiose.

- I - Documentation,
- II - Techniques de laboratoire,
- III - Histologie,
- IV - Cycle évolutif,
- V - La coccidiose maladie,
- VI - Expériences,
- VII - Matériel.

I - DOCUMENTATION.

La consultation du fichier de documentation du Laboratoire de Pathologie aviaire a permis de compléter en partie le fichier de base mis en route au Laboratoire de Dakar en juillet 1964, d'analyser et de résumer un certain nombre de documents, notes et tirés à part.

Suivant la classification adoptée à Jouy-en-Josas, les références bibliographiques peuvent être groupées en deux séries distinctes : "Coccidies" et "Coccidiostats".

La série "Coccidies" peut être décomposée de la façon suivante :

- protozoologie générale,
- coccidies et coccidioses,
- techniques de laboratoire,
- histologie,
- associations pathogènes,
- coccidiose bovine,
- coccidiose ovine et caprine,
- coccidiose aviaire,
- autres coccidioses.

Dans la série des "coccidiostats", les références peuvent être classées soit en fonction du coccidiostat, soit en fonction de l'hôte dont le traitement est envisagé.

II - TECHNIQUES DE LABORATOIRE.

1) . Etude de la multiplication et de la conservation des souches.

a) Infestation expérimentale.

Méthode : Dans une culture d'oocystes, prélever une bonne quantité d'oocystes, l'homogénéiser dans une quantité connue d'eau physiologique. A l'aide d'une cellule de THOMA, déterminer le nombre d'oocystes par mm³. Modifier les variantes (quantité d'oocystes/volume d'eau physiologique) afin d'obtenir par exemple 25.000 oocystes par mm³, ce qui constitue une dose moyenne d'infestation.

./...

Chez le poussin, l'inoculation se fait à la pipette graduée, directement dans le fond de l'oesophage (Eimeria tenella). Le temps d'évolution de la maladie est de 7 jours, le jour de l'inoculation étant compté jour zéro. C'est donc au 7ème jour que l'on prélève les caecums pour récupérer les oocystes.

b) Concentration, lavage et conservation des oocystes.

Méthode : (ex. Eimeria tenella chez le poussin).

- racler la surface interne des caecums parasités pour récupérer la totalité du contenu (ne pas racler la muqueuse trop profondément, les débris muqueux sont gênants pour la suite des opérations),
- diluer les excréments dans un peu d'eau physiologique à 6 o/oo de manière à former une pâte consistante (par exemple : 20 gr. + 7 à 8 cc d'eau). Passer au broyeur pendant quelques secondes, puis mélanger le broyat avec le double de son poids de glycérine pure (d = 1,26),
- répartir la suspension homogène obtenue dans un certain nombre de tubes à centrifuger (à préférence en plastique car les oocystes ont tendance à se coller sur le verre),
- centrifuger à 4500-5000 tours/minute pendant 10 mn, après quoi la surface des tubes est recouverte d'une pellicule de 2 à 3 mm d'épaisseur contenant pratiquement tous les oocystes du prélèvement,
- prélever la pellicule sans la mélanger au liquide, puis la diluer dans un peu d'eau physiologique à l'aide d'une spatule ou d'un "clou" (agitateur à extrémité aplatie),
- filtrer cette dilution sur gaze pour éliminer les dernières particules qui seraient montées à la surface du tube,
- centrifuger une 2ème fois, en milieu physiologique. La totalité des oocystes se dépose au fond du tube.
- décanter. Ajouter quelques gouttes d'eau physiologique; bien mélanger la pellicule avec une pipette pour obtenir une suspension bien homogène,
- sur un milieu "agar" en solution à 15 o/oo dispose dans le fond d'une boîte de Pétri, étaler la suspension d'oocystes,
- afin d'obtenir la sporulation des oocystes, mettre les boîtes de Pétri sans couvercle, à l'étuve à 30°C (l'étuve doit avoir une aération suffisante et une humidité relative importante),
- après la sporulation, conserver les boîtes de Pétri fermées (gélose + oocystes sporulés) au frigidaire, à 4°C.

./...

2) Exystation expérimentale *

Si l'observation des oocystes est relativement aisée, celle des sporocystos et des sporozoïtes est **beaucoup plus délicate et nécessite un certain nombre de manipulations** préalables. Il faut, en effet, provoquer artificiellement la libération des sporocystes, puis celle des sporozoïtes pour pouvoir étudier leur morphologie.

Méthodes :

a) Libération des sporocystos.

Une suspension oocystes-eau distillée est passée pendant 15 minutes au broyeur de POTER, puis centrifugée à 3000 tours/minute pendant 10 mn. Si on examine au microscope une goutte de la solution obtenue, on observe un très grand nombre de sporocystes en liberté.

b) Libération des sporozoïtes.

Prélever à la pipette une goutte de la solution (de préférence dans le fond d'un tube centrifugé), la monter sur lame, la mélanger avec une goutte d'une solution enzymatique, puis lutrer la préparation.

Solution enzymatique : solution de pancréatine à 0,3 %
plus solution de sels biliaires à 0,75%.

Examiner la préparation au microscope sur platine chauffante réglée à 41°C.

On peut observer ainsi la libération d'un bon nombre de sporozoïtes.

Deux autres techniques peuvent être utilisées :

1^{ère} technique : prélever quelques oocystes dans une boîtr de culture, monter entre lame et lamelle dans une goutte d'eau physiologique et lutrer la préparation; tapoter doucement sur la lamelle avec l'ongle pour briser les enveloppes oocystiques. On peut monter directement dans une goutte de la solution enzymatique; dans ce cas, on obtient la libération des sporozoïtes.

2^{ème} technique : laver les oocystes par 2 centrifugations dans la solution suivante : 1000 cc eau tamponnée à 7,4 (tampons : NaH_2PO_4 - 4,08 gr/l
 Na_2HPO_4 - 3,55 gr/l)

30 cg de pancréatine

75 cg de sels biliaires.

Prélever le culot, le broyer au tube de POTER. Monter une goutte de la suspension entre lame et lamelle. Lutrer la préparation et examiner sur platine chauffante.

* rupture des enveloppes et libération des sporozoïtes.

Il est possible de suivre les modalités de l'exystation proprement dite. L'agitation des sporocystes est fonction de la température (maximum 40 à 42%). Certains d'entre eux, sous l'action des 2 sporozoïtes captifs agissant à la manière d'un couple de forces, tournent sur eux-mêmes de plus en plus rapidement. Finalement, la fine enveloppe sporocystique se déchire en libérant les sporozoïtes qui nagent immédiatement dans le milieu par contractions successives,

3) Méthodes d'isolement.

Au cours de ce stage, les méthodes d'isolement de souches pures n'ont pu être abordées de façon précise car les recherches du laboratoire de parasitologie de Jouy-en-Josas portent essentiellement sur la coccidiosc caecale à Eimeria tenella, espèce isolée naturellement dans les caecums. Cependant, on peut envisager d'ores et déjà un certain nombre de méthodes plus ou moins théoriques.

a) Méthodes biologiques.

Dans le cas, par exemple, de Eimeria tenella, il est facile d'obtenir une souche pure; il suffit en effet de prélever les caecums d'un animal infesté et d'en extraire les oocystes selon la méthode classique d'établissement des souches, déjà indiquée. Il est donc absolument nécessaire de connaître la localisation exacte des phases terminales des espèces de coccidies dont l'étude est envisagée afin de pouvoir les isoler d'une manière rigoureuse.

D'autre part, si l'on connaît exactement le temps d'évolution des différentes espèces d'Eimeria associées dans le souche de départ, il est possible de séparer, à partir d'excréments d'animaux infestés expérimentalement, les oocystes de l'espèce dont le cycle est le plus rapide dans les conditions de l'expérience.

b) Méthodes mécaniques.

Ces méthodes consistent à isoler un oocyste à partir duquel on essaye d'infester expérimentalement un animal absolument sain. (vérifier auparavant l'absence d'oocystes dans les fèces). L'infestation est répétée en chaîne au moins trois fois. A chaque passage on administre à un animal sain la totalité des excréments rejetés par l'animal infesté antérieurement (après avoir vérifié la présence d'oocystes), dans le but de multiplier l'espèce au maximum.

Finalement, on doit obtenir dans les excréments du dernier animal parasité une bonne concentration d'oocystes de la même espèce que celle de l'oocyste de départ.

./...

Pour isoler un seul oocyste, il existe **actuellement trois méthodes**, de réalisation extrêmement délicate :

1 - à partir d'une solution aqueuse contenant un certain nombre d'oocystes, effectuer des solutions de plus en plus diluées afin d'obtenir dans un très faible volume d'eau (par exemple dans une goutte de la solution terminalo montée sur lame), un seul oocyste.

2 - on peut utiliser un "emporte-pièce" spécial, parfaitement centré, que l'on substitue à l'objectif microscopique après avoir placé l'oocyste à recueillir bien au centre du champ; repérer le centre à l'aide du spot lumineux (méthode américaine).

3 - emploi d'un micromanipulateur (méthode extrêmement précise).

4) Excrétion oocystale.

Dans bien des cas, il est indispensable de connaître, soit la quantité d'oocystes émise par 24 h et par animal, soit le nombre d'oocystes par gramme d'excréments émis par animal, dans des conditions données.

Méthode : Par un dispositif spécial, recueillir soit un échantillon représentatif, soit la totalité des excréments émis par l'animal parasité; peser et mettre en solution aqueuse. A l'aide d'un broyeur mécanique, homogénéiser la solution au maximum et prélever en plusieurs endroits différents un volume donné de la suspension. Compter le nombre d'oocystes à la cellule de THOMA.

Un calcul mathématique nous donne la concentration des oocystes dans les excréments, valeur quantitative constituant un critère fondamental d'expérimentation.

5) Production d'antigène mérozoïtes (Eimerio tenella).

Méthode : Infester expérimentalement un lot de poussins à raison de 10.000 oocystes sporulés de E. tenella par animal,

5 jours après, au stade mérozoïtes de 2ème génération (stade pathogène-cf. cycle évolutif), prélever les caecums,

./...

- isoler une portion de l'organe à étudier, par exemple une portion intestinale ; ligaturer: une des extrémités et par l'autre injecter à la seringue une quantité de liquide fixateur suffisante pour distendre modérément la cavité,

- lier l'extrémité par laquelle on a pratiqué l'injection; sectionner la partie ainsi préparée, la plonger dans le liquide fixateur.

Après fixation complète, on peut très facilement débiter en rondelles.

Remarque : avant la mise en place de la première ligature, faire passer dans la lumière du tube intestinal un léger courant d'eau afin de débarrasser celui-ci des excréments les plus grossiers.

b) Fixation.

Les fixateurs suivants ont été utilisés.

- 1- BOUIN NORMAL (ou PICROFORMOL DE BOUIN).
- 2- MELANGE DE BOUIN HOLLANDE (ou PICROFORMOL CUPRIQUE).
- 3- MELANGE DE DUBOSQ BRASIL (ou BOUIN ALCOOLIQUE).
- 4 - MELANGE DE HELLY (ou ZENKER FORMOL)

bichlorure de mercure	5 g
bichromate de potassium	2 g 5
sulfate de sodium	1 g
eau distillée	100 cc
formol neutre	10 %

Fixation au Helly :

temps de fixation	5 h
lavage à l'eau	12 h
lavage à l'alcool iodé pour enlever le bichlorure	12 h
deshydratation : alcool	3 bains
toluène	3 bains

Fixation aux différents BOUINS :

temps de fixation 2 à 4 jours
Laver directement à l'alcool à 95° en présence de carbonate de lithium pour faciliter l'élimination de l'acide picrique.

deshydratation : alcool	3 bains
toluène ".	3 bains

✓...

↑ - COLORATION A L'HEMATOXYLINE FERRIQUE DE HEIDENHAIN

mordant : alun de fer à 3 % (sulfate double d'ammonium et de sesquioxyde
2 h

Temps de deshydratation

alcool 1 70-95°
2 h

alcool 2 95°
2 h

alcool 3 100°
3 h

Imprégnation toluène

toluène 1 : 1 h

toluène 2 : 1 h

toluène 3 : 10-15 h

c) Inclusion et coupe.

- les tissus doivent subir au préalable 3 bains de paraffine (3 h; 3 h; 12 h) avant d'être inclus dans le bloc,

- les blocs sont coupés à 5 microns à l'aide d'un microtome,

- les coupes sont collées sur lame par une solution aqueuse d'albumine de Mason, sur platine chauffante,

- laisser sécher les coupes 24 h.

d) Colorations.

Avant d'effectuer la coloration, déparaffiner en passant les coupes successivement dans : toluène : 2 mn, alcool à 95° : 2 mn et alcool 70° : 2 mn. Puis laver à l'eau distillée.

Les colorations suivantes ont été réalisées :

1 - COLORATION A L'HEMATOXYLINE FERRIQUE DE HEIDEMHAIN

mordant : alun de fer à 3 % (sulfate double d'ammonium et de sesquioxyde de fer) 2 h

colorant : solution aqueuse d'hémathoxyline de Geigy à 1 % (10 cc sol. hémathoxyline à 10 % dans alcool 90° + 90 cc d'eau distillée) . . . 2 h

(laver à l'eau entre chaque opération)

- différencier à l'alun de fer (solution différente de celle qui a servi à mordancer); laver à l'eau distillée, deshydrater, puis monter au baume du Canada ou au D.P.X.

./...

2 - Méthode PANOPTIQUE-PAPPENHEIM

1er temps : { 1 cc May Grunwald + 4 cc eau distillée neutre (neutralisée
par du carbonate de soude)
1/4 d'heure à 37°C

2ème temps : { Giemsa, 3 gouttes pour 2 cc d'eau distillée
3/4 d'heure à 37°C

Différencier par actions successives pendant quelques secondes dans eau acétifiée à 1/500 ou alcool absolu-acétone. Puis laver à l'eau distillée et monter au baume ou au DPX.

3 - COLORATION A L'HEMALUN-ERYTHROSINE-SAFRAN de P.MASSON.

- Colorer à l'hémalun 5 à 15 mn, puis laver à l'eau,
- différencier à l'alcool chlorhydrique quelques secondes (suivre au microscope l'évolution de la différenciation),
- faire virer la coloration (du rouge au bleu violet par action de l'eau du robinet légèrement alcaline, 5 mn),
- colorer à l'érythrosine sur lame une seconde et laver à l'eau,
- passer quelques secondes à l'alcool à 70^e,
- colorer sur lame au safran alcoolique, 5 mn,
- passer quelques secondes à l'alcool à 100^e, puis au toluène,
- monter au baume ou au DPX.

2) Frottis

a) Réalisation du frottis.

Méthode : par une incision longitudinale, ouvrir l'intestin ou le caecum au niveau de la zone parasitée; appliquer la muqueuse contre une lame de verre en frottant doucement. On peut également réaliser un broyat de muqueuse dans un peu d'eau physiologique, prélever une goutte de solution et l'étaler sur lame à la manière d'un frottis sanguin.

b) Coloration du frottis

à sec,

- après séchage, colorer la lame pendant 3 mn au May Grunwald, puis ajouter de l'eau distillée neutre. Laisser agir une minute,
- égoutter sans laver, et colorer 30 mn au Giemsa.

./...

humide,

- passer le frottis (collé par eau albumineuse) aux vapeurs d'acide osmique, puis fixer au Bouin alcoolique pendant 10 mn,
- laver à l'eau courante et colorer de la même façon que pour les coupes histologiques.

IV - CYCLE EVOLUTIF.

Parmi les nombreuses espèces d'Eimeria parasites du poulet, Eimeria tenella est particulièrement bien connue quant à son cycle évolutif. Il est vrai que sa localisation très stricte au niveau des caecums en fait une espèce très facilement accessible à tous les stades. L'observation des différentes phases endogènes peut être faite par coupes histologiques et frottis, compte tenu du temps d'évolution du parasite dans les cellules hôtes.

Le cycle d'Eimeria tenella est décrit ici à titre d'exemple général. do développement des Eimeria: toutes les phases dessinées ont été observées personnellement sur coupes et frottis colorés au Pappenheim.

CYCLE

Les oocystes émis dans la nature sporulent en moins de 24 h; ils sont absorbés par les volailles, passent dans le gésier où l'action mécanique provoque la libération des sporocystes.

Ceux-ci arrivent au duodénum où ils sont soumis à l'action chimique du suc pancréatique et de la bile qui provoquent la libération des sporozoïtes.

Les sporozoïtes sont entraînés à leur tour jusqu'aux caecums (cf. planche I, fig. 1-2, 3-4).

Le sporozoïte passe à travers les cellules épithéliales et s'insère entre la muqueuse et la tunique musculaire. A ce niveau il est phagocyté par un macrophage qui l'entraîne avec lui dans les cellules glandulaires; le parasite envahit la cellule hôte tandis que le macrophage disparaît.

Toute cette première partie du cycle se déroule en 12 h au maximum.

./...

A) MULTIPLICATION ASEXUEE.

Le sporozoïte croit dans sa cellule hôte et devient **un trophozoïte**. Ce dernier donne un schizonte de 1^{ère} génération qui renferme un certain nombre **de mérozoïtes de 1^{ère} génération**.

A l'ouverture de la cellule hôte, les **mérozoïtes 1** sont libérés dans la lumière et **vont** parasiter à nouveau une cellule de l'épithélium glandulaire, **donnant une 2^{ème} génération de schizontes** avec des mérozoïtes II, **de forme plus allongée que** les mérozoïtes 1. C'est le **stade 5^{ème} jour**.

Le stade schizonte II est très pathogène, le schizonte s'infiltré à l'intérieur de la glande et provoque la destruction de tissus avec atteinte des nerfs, des vaisseaux sanguins, créant des hémorragies locales et des inflammations. Une 3^{ème} génération est observée quelquefois (cf. planches II-III, fig. 5-6-7-8-9-10).

B) MULTIPLICATION SEXUEE.

Le mérozoïte II pénètre dans une cellule épithéliale, se développe pour donner, soit un macrogamète cyte granuleux **et acidophile**, soit un microgamète cyte **basophile**.

Dans le macrogamète cyte se différencie un volumineux macrogamète, **tandis que dans** le microgamète cyte apparaît un très grand nombre de microgamètes biflagellés (cf. planche IV, fig. 12-13-14-15-16~).

La fécondation s'effectue dans la cellule hôte, elle aboutit à la formation des oocystes qui sont émis à l'extérieur avec les fèces, au 7^{ème} jour.

Les conditions d'une bonne sporulation sont :

- température : 30°C
- humidité relative : **75 % minimum**
- oxygénation **intense**.

LEGENDE DES SCHEMAS

PLANCHE I - de l'ocyste au sporozoïte.

- Fig. 1 - oocyste mûr, à double **enveloppe**; à l'intérieur **une masse cytoplasmique indifférenciée**.
- Fig. 2 - **oocyste sporulé** (4 sporocystes) (remarquer les 2 granules polaires).
- Fig. 3 - sporocyste libre (2 sporozoïtes); présence d'un corps de Stieda et d'un résidu sporocystique.
- Fig. 4 - sporozoïte libre, avec un **noyau central** et un **globule réfringent**.

PLANCHE II - du trophozoïte au mérozoïte 1.

- Fig. 5 - sporozoïte dans **une cellule hôte**.
- Fig. 6 - trophozoïte (**développement du sporozoïte**) (**le noyau de la cellule hôte est écrasé** contre la membrane cytoplasmique).
- Fig. 7 - **schizonte de 1ère génération**; remarquer la persistance du **globule réfringent** déjà présent **dans le sporozoïte et le trophozoïte**,
- Fig. 8 - mérozoïte de 1ère génération.

PLANCHE III - 2ème génération.

- Fig. 9 - **schizonte de 2ème génération**, **perte du globule réfringent**.
- Fig. 10 - mérozoïte de 2ème génération, **plus allongé que ceux de la 1ère génération**.
- Fig. 11 - mérozoïte II **dans une cellule épithéliale**.

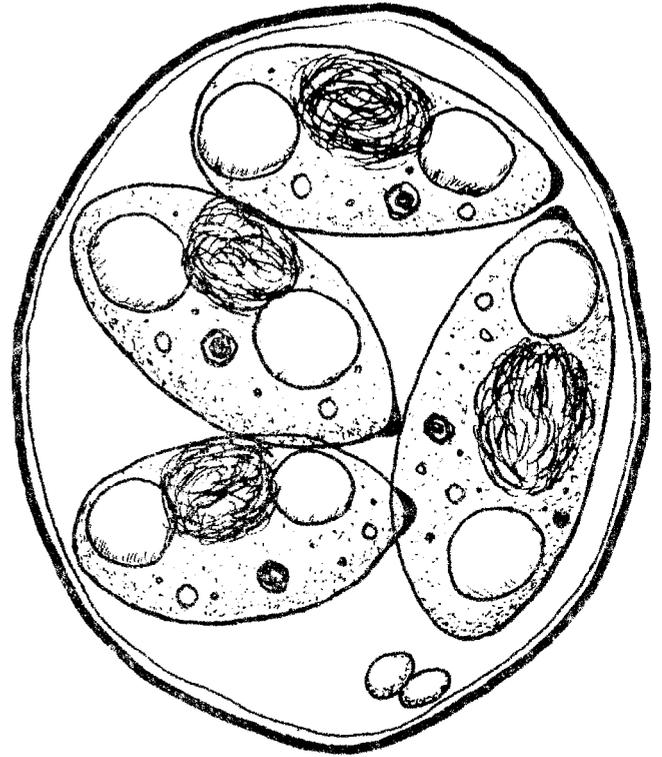
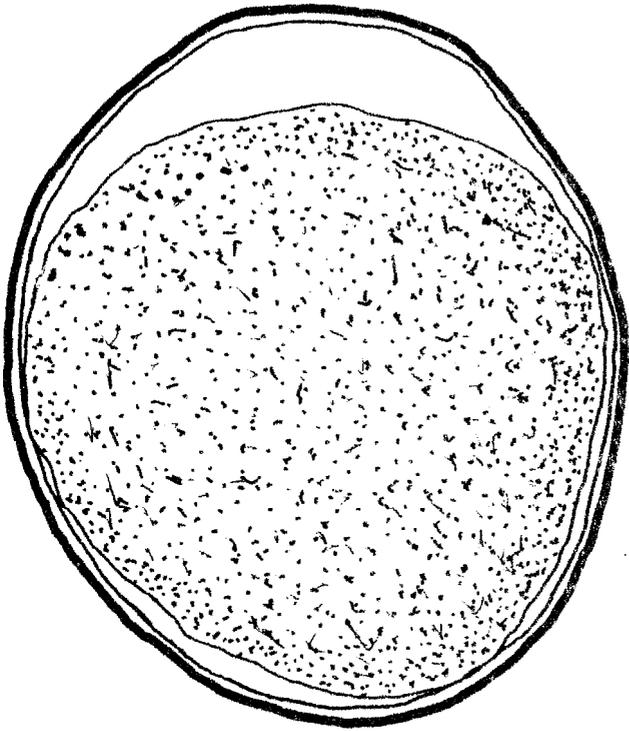
PLANCHE IV - phase sexuée.

- Fig. 12 - macrogamétocyte **en voie de maturation**,
- Fig. 13 - macrogamète à granulations acidophiles,
- Fig. 14 - microgamétocyte (**fines granulations basophiles**),
- Fig. 15 - n microgamètes en "pelote".
- Fig. 16 - microgamète biflagellé.

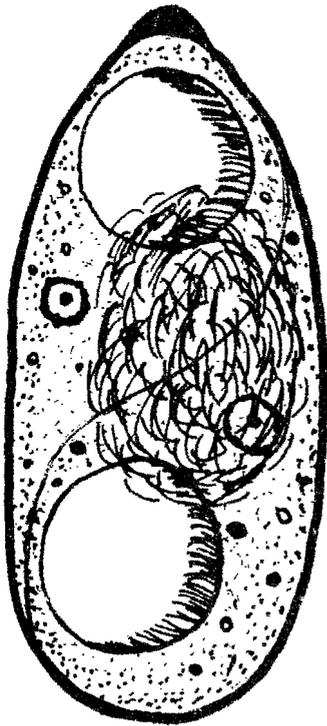
MENSURATIONS

- ocyste : 22,96 sur 19,6 microns
schizonte de 1ère génération : 24 sur 17 microns (avec 900 mérozoïtes)
mérozoïte 1 : 3 microns
schizonte II : 50 microns **de diamètre**
mérozoïte II : 16 microns
microgamétocyte : 12,4 sur 8,7 microns
macrogamétocyte : = oocyste.

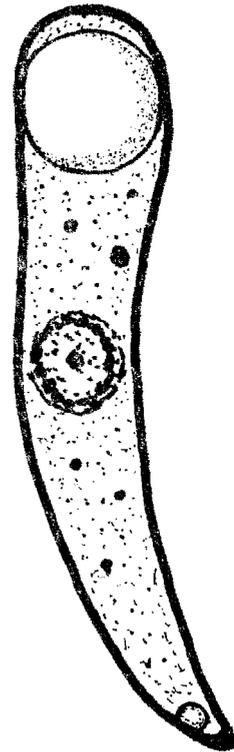
1



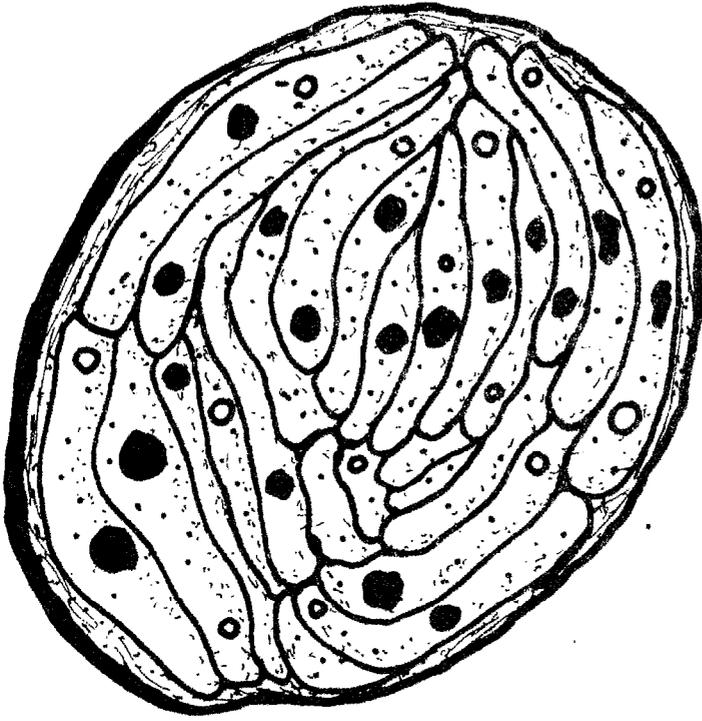
2



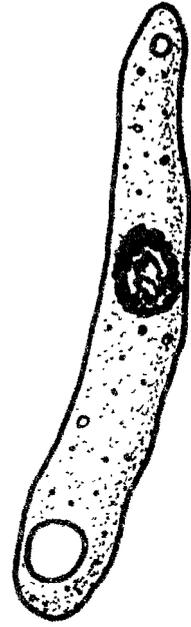
3



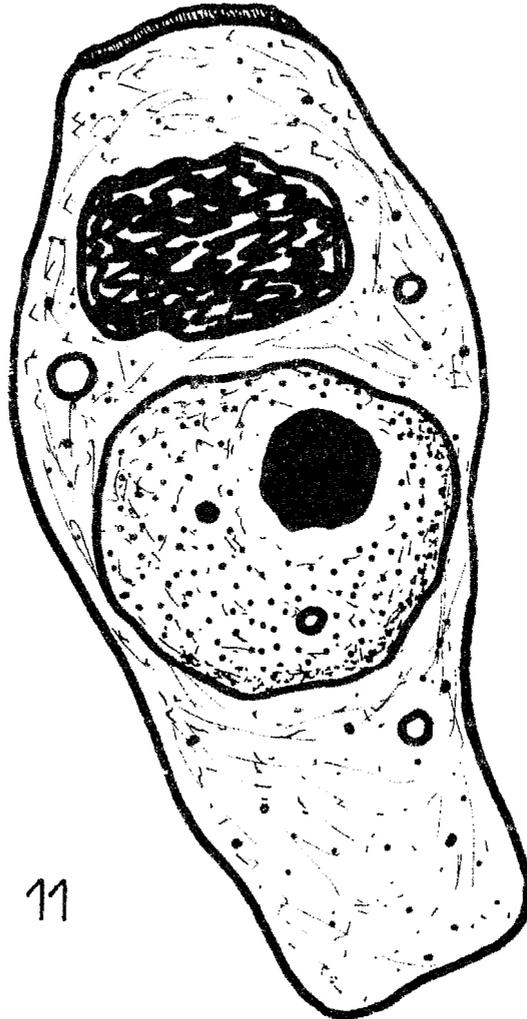
4



9



10



11

V - LA COCCIDIOSE MALADIE.

Le premier problème qui se pose au cours des recherches sur la coccidiosa est l'établissement du diagnostic.

La coccidiose peut se définir ainsi : "maladie parasitaire due à la présence dans les cellules épithéliales de l'intestin, du caecum ou du rectum, de sporozoaires appartenant à la famille des Eimeriidae et du genre Eimeria, caractérisée par un syndrome dysentérieforme avec émissions diarrhéiques aqueuses et sanguinolentes".

Il faut donc pour établir le diagnostic de coccidiose que soient réunies les 3 conditions suivantes :

- présence en grand nombre du parasite (critère d'estimation : nombre d'oocystes émis par g. de fèces),
- lésions tissulaires nettes, surtout au niveau de la muqueuse, au niveau épithélial les dégâts sont généralement moins importants,
- hémorragies avec concentration d'éosinophiles sous la muqueuse, au niveau de la zone parasitée.

Au sujet des lésions, il a été établi au Laboratoire de Pathologie aviaire de Jouy-en-Josas, une échelle permettant de noter les lésions par ordre d'importance.

Gamme de références :

a) Stade 7ème jour-coccidiose coecale à E.tenella

- 0 - pas de lésion, caecums normaux.
- 1 - quelques taches hémorragiques (pétéchies) ou Epaissement ou amincissement
- 2 - muqueuse hémorragique sans contenu sanglant (muqueuse rouge)
- 3 - muqueuse hémorragique avec contenu légèrement sanglant ou légèrement fibrineux
- 4 - muqueuse fortement hémorragique (ou desquamée) avec contenu sanglant ou très fibrineux (taille normale ou faiblement distendue)
- 5 - muqueuse fortement hémorragique (ou desquamée) avec contenu sanglant ou très fibrineux, coecum fortement distendu par le contenu
- 6 - mort de coccidiose.

./...

b) **Stade 5ème jour** (stade mérozoïte II)-coccidiose coccale à Eimeria tenella.

- 0 - pas de lésion, **caecums** normaux
- 1 - amincissement, **contenu sanguin**
- 2 - **volume normal Sans amincissement, contenu sanguinolent**, érosion de la muqueuse
- 2' - **un petit bouchon** fibrineux, mais avec lésions discrètes de la muqueuse
- 3 - **volume normal, desquamation complète de la muqueuse, contenu en boudin sanglant** organisé au légère hypertrophie avec **contenu fluide**
- 4 - **caecums légèrement distendus, amincis, contenu hémorragique** organisé
- 5 - **caecums très distendus, contenu sanglant** ou **caecums nettement distendus** avec **contenu organisé**
- 6 - mort de coccidiose ou très forte hypertrophie avec contenu très fibrineux.

Une fois le diagnostic Etabli, il faut entreprendre une action curative. Les traitements actuellement employés avec plus ou moins de succès sont les suivants :

QUINACRINE

Poudre cristalline **jaune franc**, soluble dans l'eau, présentée en comprimés de 1 g et 0,1 g. Chez les **bovins et ovins**, utilisée pnr voie **buccale** 3 la dose de **1 g pnr 100 k**, en émulsion dans l'eau, en **2 fois dans la journée**. Renouveler le traitement 2 à 3 jours de suite. Tenir les **animaux à jeun la veille au snir**.

NIVAQUINE

Poudre cristalline **blanche**, dc saveur très amère, inodore, très soluble dans l'eau, présentée en comprimés de 0,30 g. **Active** contre la coccidiose **bovine** à la dose de **1 cg par k** et par jour. Ecraser les comprimés représentant la dose journalière et les émulsionner dans l'eau tiède à raison de 3 comprimés par litre d'eau. La dose sera donnée en **2 fois dans la journée**. Renouveler le traitement les 2 jours suivants.

SULFAMIDES

Un ccrtain nombre de sulfamides sont actifs contre les **coccidics**; parmi eux :

1) La sulfadimerazine (Sulfaméthazine, Sulfamézathine, Vertolan) administrée par voie **buccale** à la dose initiale de **0,15 g par k** le premier jour, puis **demi-dose** les **4 jours suivants**.

./...

La présente expérience tend à mettre en évidence une différence de sensibilité à la coccidiose entre des "Faverolles de couleur claire" (génotype I) et des "Faverolles de couleur foncée" (génotype II), d'une part dans des conditions normales d'alimentation, d'autre part, en présence d'une carence en vitamine A.

Hypothèse : les Faverolles foncées sont plus sensibles à la coccidiose, leur vitamine A étant mobilisée en priorité pour l'élaboration du pigment caroténoïde. La carence en vitamine A aggrave cette sensibilité,

Protocole expérimental :

Tout le protocole expérimental repose sur les lois de répartition statistique; pour ne pas entrer dans le détail des opérations, disons simplement qu'il consiste à réaliser des échantillons de populations, homogènes entre eux, et représentatifs de la population de départ (construction d'histogrammes, calcul des moyennes et des variances),

Présentation des lots

GENOTYPE I (clairs)				GENOTYPE II (foncés)			
Alimentation standard		Alimentation carencée en vitamine A		Alimentation standard		Alimentation carencée en vitamine A	
sains	inoculés	sains	inoculés	sains	inoculés	sains	inoculés
1	2	3	4	5	6	7	8
.....*

On a donc au départ 8 lots. Les animaux sont répartis en 2 batteries d'expérimentation en tenant compte des lois de distribution statistique.

On enregistre les données suivantes :

- poids des animaux à 13 jours (départ)
- poids des animaux à 20 jours (fin)

7 jours = durée du cycle évolutif de Eimeria tenella (infestation expérimentale : 25.000 oocystes sporulés par animal)

- gain de poids individuel
- estimation des lésions individuelles.

./...

Conclusion :

Les résultats obtenus indiquent que chez les Faverolles foncés carencés, les lésions sont plus importantes; chez les foncés standards, les différences sont moins apparentes; l'hypothèse est donc vérifiée.

Les Faverolles foncés sont plus sensibles à la coccidiose caecale que les Faverolles clairs, surtout s'ils sont carencés en vitamine A.

**EXPERIENCE II - Propriétés coccidiostatiques du ZOAMIX
(coccidiose caecale à Eimeria tenella).**

Résultats de l'expérimentation :

" Dans les conditions expérimentales, le Zocmix (prémélange à 25 % d'ortho-dinitro-toluamide), incorporé à l'aliment à raison de 500 g/tonne, soit 125 ppm de substance active, a montré une activité préventive remarquable dans la coccidiose caecale du poulet.

Cette activité se manifeste en particulier par une inhibition totale de la mortalité par coccidiose, par l'absence dans la majorité des cas d'hémorragies caecales, par le maintien d'un état général satisfaisant des animaux soumis aux inoculations d'épreuve, et par un abaissement très important des lésions caecales. Les gains de poids des animaux infectés et traités au Zoamix sont significativement supérieurs à ceux des témoins inoculés.

L'ensemble des critères utilisés permet en outre de conclure à la supériorité du Zocmix sur un coccidiostatique de référence, la Nicarbazine,

Contrairement à ce qui a été observé pour la Nicarbazine, le Zoamix ne semble pas, à la dose normale d'utilisation, avoir d'effet toxique sur les animaux "

**EXPERIENCE III - Propriétés coccidiostatiques de L'AMPROLIUM
(coccidiose caecale à Eimeria tenella)**

Résultats de l'expérimentation :

" L'Amprolium ajouté aux aliments pour poulets de chair, à raison de 125 ppm, assure une excellente protection vis-à-vis de la coccidiose caecale à Eimeria tenella. Cette activité préventive se traduit notamment :

./...

- par l'absence de mortalité par coccidioso chez les animaux fortcmcn-t contaminés,
- par une inhibition remarquable des lésions caecales,
- par une réduction très marquée de la multiplication du parasite,
- par le maintien d'une croissance et d'un taux de conversion alimentaire identiques aux sujets non inoculés.

Cette activité semble se manifester au cours du cycle parasitaire, avant ou au début de la formation de la seconde génération de mérozoïtes.

La supplémentation alimentaire par l'Amprolium permet ,chez les animaux contaminés, l'établissement d'une résistance acquise à la réinfection. Cette résistance est au moins égale, sinon supérieure, à l'immunité naturelle mais elle semble procéder d'une autre nature et n'est pas liée à l'inhibition des éléments parasitaires. Elle se traduit, en outre, par une guérison plus complète que celle des témoins correspondants. Chez les poulets non contaminés, l'Amprolium ne modifie ni la croissance pondérale, ni le taux de conversion alimentaire. A la dose considérée, aucun signe de toxicité n'est apparu chez les sujets soumis de façon continue à la supplémentation,

L'analogie structurale de l'Amprolium avec la thiamine oblige cependant aux réserves d'usage quant à la toxicité à long terme du produit avant que des données plus complètes soient disponibles à ce point de vue, et notamment dans le cas d'une administration à des doses supérieures à celle présentement utilisée".

Les expériences II et III ont été données à titre de document de base. Les conclusions rapportées sont tirées des notes du doctar-vétérinaire J. AYCARDI, Directeur du Laboratoire de Pathologie aviaire (Jouy-en-Josas),

VII - MATERIEL SPECIAL.

Outre le matériel classique d'un laboratoire de biologie : verrerie, matériel d'histologie et produits chimiques courants, la manipulation des coccidies nécessite un matériel spécial et exclusif.

Le tableau suivant donne la lista des appareils absolument indispensables pour le démarrage des travaux de recherche.

./...

4 cellules de THOMA	numération des nncystes
1 broyeur mécanique avec rhéostat	broyage des excréments
1 centrifugeuse (tubes en plastique)	isolement des cocystes
1 étuve à 30°C	spnruation
1 étuve à 100°C	stérilisation
1 balance Trébuchet	pesée des excréments
1 réfrigérateur	conservation des souches
2 tubes de POTER	broyage des oncystes
1 platine chauffante (de microscope)	exystation
1 microscope complet (immersion, tube 3 dessiner, micromètres)	} observations morphologiques et biologiques.
1 générateur de vapeur	désinfection des locaux d ' expériences.

C O N C L U S I O N

A la suite de ce stage de spécialisation, des travaux de recherches vont être entrepris au Sénégal, dans les principales régions d'élevage où sévit la coccidiose.

Ce seront, sur le terrain, des enquêtes épidémiologiques par examens coprologiques, avec autopsies et étude des lésions aux abattoirs; au laboratoire, l'étude du ou des parasites en cause, avec détermination spécifique, établissement du cycle évolutif, localisation et importance des lésions.

Les recherches sur les coccidioses efficaces seront poursuivies parallèlement.

REMERCIEMENTS.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à Monsieur le Docteur-vétérinaire J. AYCARDI, Directeur du Laboratoire de Pathologie aviaire du C.N.R.Z., à Jouy-en-Josas, qui m'a accueilli dans son service, et m'a si justement conseillé durant ce stage.

Je prie Monsieur le Docteur-vétérinaire PAGOT, Directeur de l'Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, et Monsieur le Docteur-vétérinaire DRUE, Directeur du Laboratoire national de recherches vétérinaires de Dakar, d'accepter mes très vifs remerciements pour les facilités qu'ils m'ont accordées en me permettant d'effectuer ce stage de spécialisation.
